

甲状腺乳头状癌组织 E-cadherin、vimentin 的表达及临床意义

唐振宁¹, 李璐², 张朝林¹, 刘奇伦¹

1. 宁夏医科大学总医院肿瘤外三科, 宁夏 银川 750004;

2. 宁夏医科大学, 宁夏 银川 750004

【摘要】 目的 探讨甲状腺乳头状癌组织中 E-钙黏蛋白(E-cadherin)、波形蛋白(vimentin)的表达水平及其临床意义。方法 选取 2017 年 1 月 1 日至 12 月 31 日在宁夏医科大学总医院住院手术治疗的甲状腺乳头状癌患者 63 例, 结节性甲状腺肿患者 23 例, 以及其中 36 例甲状腺乳头状癌患者的癌旁组织, 采用免疫组化方法检测组织中 E-cadherin、vimentin 蛋白的表达情况, 分析不同甲状腺组织中两者的表达水平及其与甲状腺癌患者临床特征的关系。结果 甲状腺乳头状癌组织中 E-cadherin 的阳性表达率为 71.43%, 明显高于癌旁组织的 19.44% 和结节性甲状腺肿组织的 17.39%, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 甲状腺乳头状癌组织中的 vimentin 阳性表达率为 84.13%, 分别与癌旁组织的 75.00% 和结节性甲状腺肿组织的 73.91% 比较差异均无统计学意义($P > 0.05$); E-cadherin、vimentin 表达与甲状腺乳头状癌患者的年龄、肿瘤大小及淋巴结转移情况无明显相关($P > 0.05$)。结论 E-cadherin 在甲状腺乳头状癌组织高表达, 可能与甲状腺乳头状癌的发生有关, 有助于甲状腺乳头状癌的诊断, vimentin 在甲状腺乳头状癌中表达意义尚不明确。

【关键词】 甲状腺乳头状癌; 上皮-间质转化; E-钙黏蛋白; 波形蛋白

【中图分类号】 R736.1 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2020)04-0425-04

Expression of E-cadherin and vimentin in papillary thyroid carcinoma and its clinical significance. TANG Zhen-ning¹, LI Lu², ZHANG Chao-lin¹, LIU Qi-lun¹. 1 Department of Oncology Surgery, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia, CHINA; 2. Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia, CHINA

【Abstract】 Objective To investigate the expression and clinical significance of E-cadherin and vimentin in patients with papillary thyroid carcinoma. **Methods** Specimens were collected from 63 patients of papillary thyroid carcinoma and 23 patients of thyroid nodular goiter in General Hospital of Ningxia Medical University from January 1, 2017 to December 31, 2017. Paracancerous tissue samples of 36 patients with papillary thyroid carcinoma were also collected. The expression of E-cadherin and vimentin in resected samples were detected by immunohistochemistry. The correlations between the expression of E-cadherin and vimentin with clinicopathologic features were analyzed. **Results** Immunohistochemical studies demonstrated that E-cadherin expression was significantly higher in papillary thyroid carcinoma (71.43%) than that in adjacent tissue (19.44%) and in thyroid nodular goiter (17.39%), with statistically significant differences ($P < 0.05$). The positive expression rate of vimentin in papillary thyroid carcinoma was 84.13%, which showed no statistically significant difference with 75.00% in adjacent tissues and 73.91% in nodular goiter ($P > 0.05$). E-cadherin and vimentin expression was not significantly correlated with sex, tumor size, or lymph node metastases ($P > 0.05$). **Conclusion** E-cadherin is related with the occurrence of papillary thyroid carcinoma. The clinical significance of vimentin in papillary thyroid carcinoma is still unclear.

【Key words】 Thyroid neoplasms; Epithelial-to-mesenchymal transition; E-cadherin; vimentin

甲状腺癌的发病率近年来在我国逐渐增加^[1], 其中乳头状癌是甲状腺癌最常见的病理类型, 约占甲状腺癌的 80%。除了原发瘤发病率明显增加外, 甲状腺乳头状癌的局部和远处转移发生率同样呈增加的趋势, 因此研究甲状腺乳头状癌的病理学行为, 才能对甲状腺乳头状癌进行更加精准的预防和治疗^[2]。上皮-间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)通常是指细胞通过分子及细胞改变, 使得细胞的

黏附能力、极性以及上皮标记物的表达水平下降, 从而获得了细胞的活动性、梭形性以及间质样细胞标记。目前多数研究认为 EMT 过程能够使得肿瘤细胞从瘤体脱落而发生转移^[3], 与此同时 EMT 同样参与了肿瘤的发生、发展以及对于治疗的耐受过程^[4]。EMT 在甲状腺乳头状癌的发生、进展过程中同样起关键作用, 但目前对甲状腺乳头状癌 EMT 的分子标记物及具体机制仍存在争议^[5]。本文拟检测 EMT 的关键标志物

基金项目: 国家自然科学基金地区项目(编号: 81360390); 宁夏自然科学基金(编号: NZ13161、NZ17270); 宁夏医科大学特殊人才启动项目(编号: XT201327)

通讯作者: 刘奇伦, E-mail: liuql6311@126.com

E-钙黏蛋白(E-cadherin)和波形蛋白(vimentin)在甲状腺乳头状癌中的表达情况,并探讨其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 1 月 1 日至 12 月 31 日在宁夏医科大学医院住院治疗,并经术后病理证实的甲状腺乳头状癌患者标本 63 份,其中获取癌旁组织标本 36 份,另取结节性甲状腺肿患者标本 23 份。甲状腺癌患者年龄 19~80 岁,中位年龄 47.5 岁;男性 18 例,女性 45 例;淋巴结转移 37 例,其中单纯 VI 区淋巴结转移 20 例。根据 2002 年美国癌症联合会(AJCC)甲状腺癌 TNM 分期, I 期 41 例, II 期 1 例, III 期 11 例, IVa 期 10 例。

1.2 实验材料 E-cadherin (ZA0565)、Vimentin (ZA0511)兔抗人多克隆抗体购自中杉金桥公司,二抗及 DAB 试剂盒购于福州迈新生物技术公司

1.3 实验方法 免疫组织化学使用染色链霉素抗生物蛋白-过氧化酶法(streptavidin-peroxidase, SP 法)。常规取材肿瘤组织、癌旁组织(距离肿瘤组织 2 cm)。E-cadherin、Vimentin 一抗的工作浓度为 1:100,以磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作为阴性对照,细胞内出现棕黄色或黄褐色颗粒视为阳性表达,结果根据染色强度和阳性细胞所占百分比综合判定。染色强度:无色为 0 分,浅黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分;阳性细胞所占百分比 <5% 为 0 分, 5~25% 为 1 分, 26%~50% 为 2 分, 51%~75% 为 3 分, >75% 为 4 分。两者乘积 0~3 分为阴性(-), 4~6 分为弱阳性(+), 7~9 分为中等强度阳性(++), 10~12 分为强阳性(+++)。

1.4 统计学方法 应用 SPSS17.0 统计软件进行数据分析,计数资料比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 E-cadherin 在不同类型甲状腺组织中的表达 E-cadherin 阳性染色部位为细胞膜,胞膜呈连续棕黄色、棕褐色线性分布,见图 1。63 例甲状腺乳头状癌组织中 E-cadherin 表达阳性 45 例(71.43%); 36 例癌旁组织中 E-cadherin 表达阳性 7 例(19.44%); 23 例结节

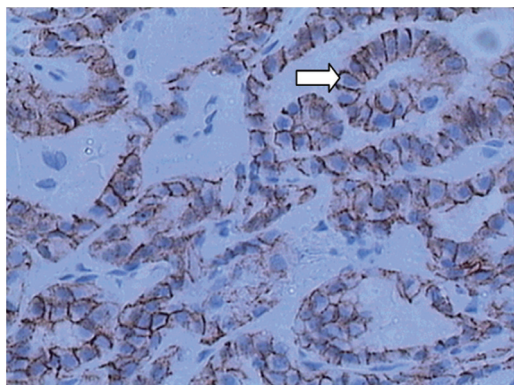


图 1 E-cadherin 在甲状腺乳头状癌组织中的表达($\times 100$, 箭头所指为阳性细胞)

性甲状腺肿组织中 E-cadherin 表达阳性 4 例(17.39%), 甲状腺乳头状癌 E-cadherin 蛋白表达高于癌旁组织, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 癌旁组织 E-cadherin 蛋白表达与结节性甲状腺肿比较差异无统计学意义($P > 0.05$); 甲状腺乳头状癌 E-cadherin 蛋白表达高于结节性甲状腺肿, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 E-cadherin 在不同甲状腺组织中的阳性率比较(例)

组织类型	例数	E-cadherin				阳性率(%)	χ^2 值	P 值
		-	+	++	+++			
甲状腺乳头状癌	63	18	20	9	16	71.43 ^a		
癌旁组织	36	29	7	0	0	19.44 ^b	34.209	<0.05
结节性甲状腺肿	23	19	4	0	0	17.39 ^c		

注:与癌旁组织组比较,^a $P < 0.05$;与结节性甲状腺肿组比较,^b $P > 0.05$;与甲状腺乳头状癌组比较,^c $P < 0.05$ 。

2.2 Vimentin 在不同类型甲状腺组织中的表达 Vimentin 阳性染色部位为细胞浆,呈棕黄色、棕褐色巢团状或片状分布的颗粒,见图 2。Vimentin 在 63 例甲状腺乳头状癌组织中表达阳性 53 例(84.13%), 36 例癌旁组织中 Vimentin 表达阳性 27 例(75.00%); 23 例结节性甲状腺肿组织中 E-cadherin 表达阳性 17 例(73.91%), 三组 Vimentin 阳性率差异无统计学意义($\chi^2 = 0.702, P = 0.704$), 见表 2。

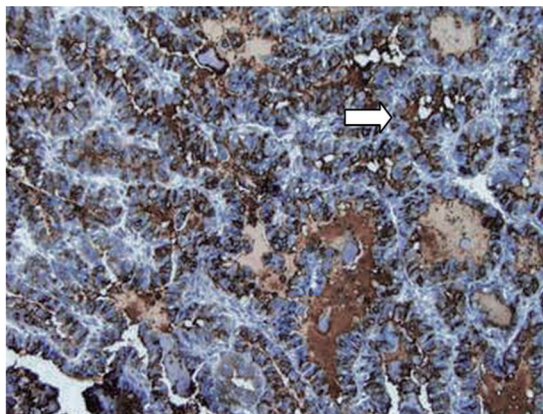


图 2 Vimentin 在甲状腺乳头状癌组织中的表达($\times 100$, 箭头所指为阳性细胞)

表 2 Vimentin 在不同甲状腺组织中阳性率比较

组织类型	例数	Vimentin 表达				阳性率(%)	χ^2 值	P 值
		-	+	++	+++			
甲状腺乳头状癌	63	10	20	16	17	84.13		
癌旁组织	36	9	27	0	0	75.00	0.702	0.704
结节性甲状腺肿	23	6	16	1	0	73.91		

2.3 不同临床特征甲状腺乳头状癌患者 E-cadherin、Vimentin 表达阳性率比较 不同年龄、不同肿瘤大小以及有淋巴结转移的甲状腺乳头状癌患者 E-cadherin、Vimentin 阳性率的差异均无统计学意义($P > 0.05$), 见表 3。

表3 不同临床特征甲状腺乳头状癌患者E-cadherin、Vimentin阳性率比较

临床特征	例数	E-cadherin		χ^2 值	P值	Vimentin		χ^2 值	P值
		阳性	阳性率(%)			阳性	阳性率(%)		
年龄(岁)				0.059	0.808			0.000	1.000
<45	26	19	73.08			22	84.62		
≥45	37	26	70.27			31	83.78		
肿瘤大小(cm)				0.113	0.737			0.000	1.000
≤2	49	36	73.47			41	83.67		
>2	14	9	64.29			12	85.71		
淋巴结转移				0.105	0.746			1.298	0.255
有	37	27	72.97			29	78.38		
无	26	18	69.23			24	92.31		

3 讨论

甲状腺癌的发病近几十年间在世界范围内明显增加,其中甲状腺乳头状癌的发病率的增加在各种类型中最为显著^[6]。虽然甲状腺乳头状癌与其他类型的甲状腺癌相比,具有发展慢、疗效好和预后好的特点,但淋巴结转移与远处脏器转移仍然是影响甲状腺乳头状癌患者生存及生活质量的主要因素,有报道显示约有15%甲状腺乳头状癌淋巴结转移患者伴有局部侵犯并对传统治疗耐受^[7-9]。目前术前可以通过超声或增强CT来评估甲状腺癌患者的颈部淋巴结情况,但这些手段的灵敏度仅有23%~67%^[9]。传统的甲状腺乳头状癌治疗方式包括:手术、甲状腺激素治疗以及核医学治疗,上述的治疗方式对人体都具有一定的副作用。因此了解甲状腺乳头状癌的发生及转移机制,进而对探索甲状腺乳头状癌的预防及治疗新手段有着重要的意义。

多数研究发现:肿瘤细胞能够通过EMT,改变其细胞黏附分子的表达,从而获得移动和侵袭特性,促使肿瘤细胞由原发癌迁移播散^[10]。EMT的作用已在多数实体肿瘤的演进中得到证实,与肿瘤的发生、转移、耐药以及肿瘤干细胞的形成有着密切关系^[11-12]。由于甲状腺乳头状癌生物学行为具有特殊性,EMT在甲状腺乳头状癌的作用及机制目前仍存在争议^[13]。进一步了解EMT在甲状腺癌发生及转移过程中作用和机制,通过抑制这一转化过程,达到防治的目的,不失为甲状腺癌防治的新策略。

目前的研究主要通过上皮或间质标记物表达的改变来确定EMT发生,上皮特性的标记物包括E-cadherin,闭锁蛋白(occludins)等,vimentin、N-钙黏蛋白(N-cadherin)则是间质特性的标记物^[10]。本研究选取常见的标志性标记分子E-cadherin和vimentin作为研究对象,探讨两者在甲状腺癌组织中的表达及意义。钙粘蛋白是一个钙相关的细胞黏附糖蛋白,是由钙粘蛋白1基因编码,E-cadherin通过 β -catenin和 α -catenin通路调节细胞骨架^[14]。E-cadherin的表达和下调通常是由遗传、体细胞突变、启动子的甲基化以

及一些转录因子的抑制造成的^[15]。EMT过程中,E-cadherin的表达通常会表现降低。本研究结果显示,甲状腺乳头状癌组织中的E-cadherin阳性表达率高于癌旁组织和结节性甲状腺肿组织,与国外研究结果一致^[16]。研究显示E-cadherin表达缺失,会增加甲状腺癌局部复发率和远处转移率^[17],E-cadherin的表达与甲状腺乳头状癌患者淋巴结转移、临床分期相关,与患者的性别、年龄及肿瘤的大小无关^[18]。ZHOU等^[19]近期对46项研究进行meta分析显示:E-cadherin的表达和甲状腺淋巴结转移、分化程度以及TNM分期相关。而SETHI等^[16]研究则发现,E-cadherin的表达与甲状腺癌包膜侵犯、淋巴结转移转移无关。本研究结果表明甲状腺癌乳头状癌患者E-cadherin的表达与发病年龄、肿瘤大小、淋巴结转移无关。MITCHELL等^[2]研究同样发现,E-cadherin的表达与肿瘤大小、腺体外侵犯等预后相关因子均无关,认为甲状腺乳头状癌EMT并不通过缺失E-cadherin而发生,其发生机制可能与其他肿瘤不同。也有研究表明E-cadherin可能与甲状腺癌的分化程度有关,分化型甲状腺癌向未分化型甲状腺癌转化的过程中,E-cadherin蛋白的表达逐步减少^[15]。

在EMT过程中,细胞骨架蛋白通过重组,使得细胞与间质充分接触,增加细胞与周围细胞分离并发生迁移和侵袭的能力。vimentin是细胞骨架蛋白中一个重要成员,是EMT的重要因子。一些细胞学的研究发现vimentin参与了甲状腺癌EMT过程^[4],也有文献报道甲状腺乳头状癌vimentin的表达与肿瘤的分期、淋巴结转移相关,与患者年龄、性别、肿瘤大小无关^[20]。本研究结果显示,vimentin的表达在甲状腺乳头状癌、癌旁组织以及结节性甲状腺组织中无显著性差异,与甲状腺良恶性病变与否无关。同时本研究结果表明,vimentin的表达与甲状腺乳头状癌的大小、患者年龄及淋巴结转移无关,与CALANGIU等^[21]的研究结果相符。因此vimentin表达在甲状腺乳头状癌的意义仍然需要进一步研究。也有学者报道,经典和滤泡型甲状腺乳头状癌的vimentin表达水平高于高细胞型乳头状癌^[21],提示今后的研究需要考虑甲状腺乳头状癌的组

织学亚型因素。

综上所述, E-cadherin 可能参与了甲状腺乳头状癌的形成过程。本研究中未发现 vimentin 在甲状腺乳头状癌和良性病变的差异, 研究结果未提示 E-cadherin、vimentin 表达与甲状腺乳头状癌的大小、患者年龄及淋巴结转移相关, 今后需要进一步扩大样本量, 或采用其他研究方法进一步进行验证。

参考文献

- [1] CHEN W, ZHENG R, BAADE PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] MITCHELL B, LEONE D, YANG S, et al. BRAF and epithelial-mesenchymal transition in papillary thyroid carcinoma - challenging the roles of Snail and E-Cadherin? [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(11): 5076-5086.
- [3] XIE J, FAN Y, ZHANG X. Molecular mechanisms in differentiated thyroid cancer [J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2016, 21: 119-129.
- [4] LV N, SHAN Z, GAO Y, et al. Twist1 regulates the epithelial-mesenchymal transition via the NF-kappaB pathway in papillary thyroid carcinoma [J]. *Endocrine*, 2016, 51(3): 469-477.
- [5] EKPE-ADEWUYI E, LOPEZ-CAMPISTROUS A, TANG X, et al. Platelet derived growth factor receptor alpha mediates nodal metastases in papillary thyroid cancer by driving the epithelial-mesenchymal transition [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(50): 83684-83700.
- [6] LIU Y, SU L, XIAO H. Review of factors related to the thyroid cancer epidemic [J]. *Int J Endocrinol*, 2017, 2017: 5308635.
- [7] 田文. 分化型甲状腺癌初始手术治疗的争论焦点[J]. *中国普通外科杂志*, 2015, 24(11): 1501-1503.
- [8] MA B, WANG Y, YANG S, et al. Predictive factors for central lymph node metastasis in patients with cN0 papillary thyroid carcinoma: A systematic review and meta-analysis [J]. *Int J Surg*, 2016, 28: 153-161.
- [9] ZHAN S, LUO D, GE W, et al. Clinicopathological predictors of occult lateral neck lymph node metastasis in papillary thyroid cancer: A meta-analysis [J]. *Head Neck*, 2019, 41(7): 2441-2449.
- [10] NIETO MA, HUANG RY, JACKSON RA, et al. EMT: 2016 [J]. *Cell*, 2016, 166(1): 21-45.
- [11] LO HC, ZHANG XH. EMT in metastasis: finding the right balance [J]. *Dev Cell*, 2018, 45(6): 663-665.
- [12] 张春影, 卢颖, 李青, 等. 上皮间质转化及其相关信号通路与乳腺癌干细胞的关系[J]. *中华乳腺病杂志(电子版)*, 2015, 9(1): 54-57.
- [13] DA C, WU K, YUE C, et al. N-cadherin promotes thyroid tumorigenesis through modulating major signaling pathways [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(5): 8131-8142.
- [14] MITCHELL B, DHINGRA JK, MAHALINGAM M. BRAF and epithelial-mesenchymal transition: lessons from papillary thyroid carcinoma and primary cutaneous melanoma [J]. *Adv Anat Pathol*, 2016, 23(4): 244-271.
- [15] WANG QX, CHEN ED, CAI YF, et al. Serum deprivation response functions as a tumor suppressor gene in papillary thyroid cancer [J]. *Clin Genet*, 2019, 96(5): 418-428.
- [16] SETHI K, SARKAR S, DAS S, et al. Expressions of CK-19, NF-kappaB, E-cadherin, beta-catenin and EGFR as diagnostic and prognostic markers by immunohistochemical analysis in thyroid carcinoma [J]. *J Exp Ther Oncol*, 2011, 9(3): 187-199.
- [17] BAQUERO P, SANCHEZ-HERNANDEZ I, JIMENEZ-MORA E, et al. (V600E)BRAF promotes invasiveness of thyroid cancer cells by decreasing E-cadherin expression through a snail-dependent mechanism [J]. *Cancer Lett*, 2013, 335(1): 232-241.
- [18] 刘岩, 苗玉花, 李晓明. EphA2/E-cadherin 在甲状腺乳头状癌中的表达及临床意义[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2015, 29(11): 1020-1023.
- [19] ZHOU C, YANG C, CHONG D. E-cadherin expression is associated with susceptibility and clinicopathological characteristics of thyroid cancer: A PRISMA-compliant meta-analysis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(30): e16187.
- [20] 赵乐, 唐萃, 杨磊, 等. Caveolin-1、GPR30 和 Vimentin 在甲状腺乳头状癌组织中的表达及意义[J]. *中国免疫学杂志*, 2015, 31(11): 1510-1514.
- [21] CALANGIU CM, SIMIONESCU CE, STEPAN AE, et al. The expression of CK19, vimentin and E-cadherin in differentiated thyroid carcinomas [J]. *Rom J Morphol Embryol*, 2014, 55(3): 919-925.

(收稿日期: 2019-05-17)